

DI TNC1 sejtek | 305343

Általános információk

Description

A DI TNC1 sejtvonal egy immortalizált asztrocita modell, amely az újszülött patkány diencephalonjából származó primer 1-es típusú asztrocitákból származik. A sejteket a poliomavírus középső T-antigénjének felhasználásával immortalizálták, ami biztosítja számukra a korlátlan szaporodás képességét, miközben megőrzi a primer asztrociták számos jellemzőjét. A DI TNC1 sejteket széles körben használják neuroinflammációs és neuroprotektív vizsgálatokban, különösen az asztrociták energiaanyagcseréjének, az oxidatív stresszre adott válaszreakciónak és a gyulladásos útvonalak szabályozásának feltárására. Ezek a sejtek olyan kulcsfontosságú asztrocita markereket expresszálnak, mint a gliafibrilláris savas fehérje (GFAP) és az S100 β fehérje, és részt vesznek az anyagcsere-folyamatokban, beleértve a glikogénraktározást és a neuronok energiaellátását.

A DI TNC1 asztrociták egyik jellemzője az energiaanyagcsere-vizsgálatokban való részvételük. A kutatások kimutatták, hogy ezek a sejtek különböző neurotranszmitterekre, például noradrenalinra és vazóaktív bélpeptidre (VIP) glikogénolízissel és a ciklikus AMP (cAMP) szintjének modulálásával reagálnak. Ezenkívül a DI TNC1 sejtek bizonyítottan hasznosítják a glükózt és laktátot termelnek, amelyek létfontosságúak a neuronális funkciók támogatásához. Azonban bizonyos, az elsődleges asztrocitákban megfigyelhető válaszok, mint például a glutamát-stimulált glikolízis vagy a jelentős hosszú távú glikogén reszintézis, nem olyan robusztusak a DI TNC1 sejtekben. Ez rávilágít a DI TNC1 sejtek hasznosságára az asztrociták fiziológiájának olyan specifikus aspektusainak feltárásában, amelyek a központi idegrendszer energiadinamikája szempontjából relevánsak.

A DI TNC1 sejtek felhasználásával végzett vizsgálatok másik jelentős területe az oxidatív stressz és a gyulladásos jelátviteli útvonalak vizsgálata. A DI TNC1 sejteket például a nukleáris faktor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B) és a nukleáris faktor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) útvonalak szabályozásának elemzésére használták. Az olyan növényi polifenollokkal, mint a kvercetin és az olyan növények kivonatával, mint az Ashwagandha, végzett kísérletek azt mutatták, hogy ezek a vegyületek képesek modulálni az NF- κ B és az Nrf2/ARE (antioxidáns válaszelem) útvonalakat a DI TNC1 asztrocitákban. Konkrétan a kvercetin gátolja a lipopoliszacharid (LPS) által kiváltott NF- κ B aktivitást és fokozza az Nrf2 által közvetített antioxidáns védelmet, ami szemlélteti e sejtek potenciálját a gyulladáscsökkentő és neuroprotektív szerek szűrésére.

Organism Patkány

Tissue Agy, agyvelő

Disease Normál

Synonyms DITNC1, DI-TNC1, DI TNC-1

Jellemzők

Breed/Subspecies Sprague Dawley

Age 1 nap

Gender Meghatározatlan

DI TNC1 sejtek | 305343

Morphology Fibroblasztok

Cell type Asztrocita, II-es típus

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation DI TNC1 (Cytion katalógusszám: 305343)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0247

GMO Status GMO-S1: Ez a patkány asztrocita sejtvonala (DI TNC1) tartalmaz egy SV40 korai régiójú konstrukciót GFAP promóter kontroll alatt, amelyet plazmid transzfekcióval juttatnak be, lehetővé téve az immortalizációt. Az inzert stabil az elsődleges asztrocitákból származó sejtekben. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Protein expression Kifejeződő gének: alfa-2 makroglobulin, transferrin

Tumorigenic Nem, immunszupprimált egereken tesztelték, de félszilárd táptalajon kolóniákat képeztek

Viruses Transzformáns: Simian virus 40 (SV40)

A kezelése

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

DI TNC1 sejtek | 305343

Subculturing

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Fluid renewal

hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

DI TNC1 sejtek | 305343

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, párasított légkör.

Flask Coating Nincs

Freezing Procedure A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.